

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

67896

Patent dodatkowy
do patentu _____

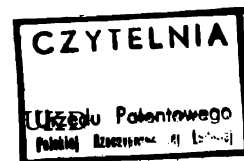
Zgłoszono: 01.III.1969 (P 132 044)

Pierwszeństwo: _____

Opublikowano: 25.IV.1973

Kl. 42h,14/05

MKP G02b 21/14



Twórca wynalazku: Maksymilian Pluta

Właściciel patentu: Centralne Laboratorium Optyki, Warszawa (Polska)

Mikroskop interferencyjny i fazowy ze zmiennym kontrastem

1

Przedmiotem wynalazku jest mikroskop do obserwacji i badań preparatów przezroczystych w kontraście fazowym z możliwością regulacji kontrastu obrazu poprzez zmianę stosunku fazy i amplitudy światła bezpośredniego i ugiętego na jednorodnościach preparatu, jak również mikroskop interferencyjny z możliwością zmiany fazy między interferującymi falami świetlnymi oraz regulacji wielkości rozdwojenia obrazu badanego przedmiotu, przy czym obydwa rodzaje mikroskopu stanowią jedno lub dwa różne urządzenia.

Zwykle mikroskopy do badań w kontraście fazowym zaopatrzone są w płytkę fazową zmieniającą fazę światła bezpośredniego względem dyfrakcyjnego o $+90^\circ$ (płytkę fazową dodatnią) lub -90° (płytkę fazową ujemną) i osłabiają jego natężenie w kilkudziesięciu procentach. Jest to zatem płytkę fazową o stałym przesunięciu fazowym i stałej absorpcji światła.

Przesunięcie fazy światła bezpośredniego względem dyfrakcyjnego o $+90^\circ$ lub -90° jest optymalne tylko dla takich mikroobъекtów przezroczystych (fazowych), które wykazują nieznaczne różnice drogi optycznej w stosunku do otaczającego je środowiska. W badaniach mikroskopowych występuje jednak duża różnorodność mikroobъекtów i struktur wywołujących różne przesunięcia fazy przechodzącej fali świetlnej. Chcąc mieć możliwość obserwacji każdego szczegółu preparatu w optymalnych warunkach kontrastu fazowego należałoby

2

dysponować płytką fazową, która zmieniałaby w sposób ciągły różnicę fazy między światłem bezpośrednim i dyfrakcyjnym.

Kontrast obrazu przedmiotu w mikroskopie fazowo-kontrastowym zależy nie tylko od przesunięcia fazowego płytki fazowej, ale również od stopnia osłabienia natężenia światła bezpośredniego. Kontrast ten jest maksymalny, jeżeli natężenia światła bezpośredniego i dyfrakcyjnego, docierającego do płaszczyzny obrazowej mikroskopu, są sobie równe. Natężenie światła dyfrakcyjnego zależy z kolei od wielkości badanych mikrostruktur i wywołanych przezeń przesunięć fazowych.

Występujące w przyrodzie mikrostruktury i mikroorganizmy fazowe mogą w pewnym stopniu pochłaniać światło. Na ogół przedmioty takie są lepiej widoczne, jeśli przesunięcie fazowe i absorpcja płytki fazowej są mniejsze od wartości będących optymalnymi dla odpowiednich przedmiotów w ogóle nie pochłaniających światła.

Powyższe okoliczności sprawiają, że najbardziej korzystne byłoby takie urządzenie fazowo-kontrastowe, w którym zmiana fazy i amplitudy światła bezpośredniego w stosunku do dyfrakcyjnego odbywałaby się w sposób ciągły. Urządzenie takie umożliwiałoby otrzymywanie maksymalnego kontrastu obrazu różnych preparatów oraz różnych szczegółów i struktur występujących w tym samym preparacie.

Znane dotychczas układy fazowo-kontrastowe z płytkami fazowymi o zmiennym przesunięciu fazowym i regulowanej absorpcji płytki fazowej są dość skomplikowane i kosztowne w produkcji przemysłowej, nie znalazły więc — jak dotychczas — szerszego zastosowania praktycznego. W większości są to układy oparte na zjawisku polaryzacji i interferencji światła spolaryzowanego. Najbardziej uniwersalny jest układ Osterberga znany pod nazwą „polarent”.

Elementem odgrywającym w tym układzie rolę płytki fazowej (znajdującej się jak zwykle za obiektywem mikroskopowym w jego żrenicy wyjściowej) jest płytka dwójłonna ćwierćfalowa oraz płytka polaroidowa, składająca się z trzech części: środkowego krążka, przylegającego doń pierścienia wewnętrznego oraz pierścienia zewnętrznego, przy czym kierunek drgań światła w pierścieniu wewnętrznym jest prostopadły do kierunku drgań w środkowym krążku i pierścieniu zewnętrznym.

Z pierścieniem polaroidowym wewnętrznym sprzężona jest przysłona aperturowa pierścieniowa znajdująca się pod kondensorem mikroskopu. Ćwierćfalówka i płytka polaroidowa znajdują się między dwoma polaryzatorami, którymi odpowiednio obracając można zmieniać fazę i amplitudę światła bezpośredniego (przechodzącego przez wewnętrzny krążek i zewnętrzny pierścień polaroidowy) w stosunku do światła dyfrakcyjnego (przechodzącego przez wewnętrzny krążek i zewnętrzny pierścień polaroidowy).

Wadą tego układu jest trudność w wykonaniu płytki polaroidowej. Poszczególne jej części muszą być bowiem precyzyjnie ze sobą połączone, bez prześwitów i nierówności, co w praktyce jest trudno osiągnąć, zwłaszcza że są to elementy o małych wymiarach (od ułamka mm. do paru mm). Układ ten, jak i inne mniej lub bardziej do niego podobne, nie znalazł więc szerszego praktycznego wykorzystania.

Mikroskopy fazowe służą do badań jakościowych i opisowych. W badaniach biologicznych istnieje obecnie potrzeba badań ilościowych, mających w szczególności na celu wyznaczanie zawartości różnych substancji w komórkach i tkankach. Między innymi do takich badań stosowane są mikroskopy interferencyjne, pozwalające przez pomiar różnicy drogi optycznej określać zawartość suchej masy w komórkach i tkankach lub ich fragmentach. Mikroskopy interferencyjne są jednak bardzo drogie i poza tym w zakresie badań jakościowych i opisowych nie zastępują w pełni mikroskopów fazowo-kontrastowych.

Celem wynalazku jest opracowanie mikroskopu, który pozwalałby na ciągłą zmianę kontrastu obrazu badanych preparatów poprzez regulację zarówno fazy jak i amplitudy światła bezpośredniego względem dyfrakcyjnego, nie posiadający trudności wykonawczych lub niedoskonałości użytkowych dotychczas znanych, poprzednio wymienionych, układów oraz mógłby być równocześnie lub niezależnie (po wymianie niektórych elementów) wykorzystywany jako mikroskop interferencyjny do pomiaru różnicy drogi optycznej i innych wielkości fizycznych z nią związanych.

Cel ten osiągnięto przez zastosowanie za obiektywem mikroskopowym, układu interferencyjnego typu Michelsona, w którym rolę kostki lub płytki światłodzieliącej odgrywa polaryzator interferencyjny (np. typu Beuninga) z trzema płytkami ćwierćfalowymi, z których dwie umieszczone są między polaryzatorem a zwierciadłami interferometru. Przejście od obserwacji fazowo-kontrastowej do interferencyjnej realizowane jest przez wymianę przysłon aperturowych w kondensorze (z pierścieniowych na szczelinową) oraz zwierciadeł odbijających (z pierścieniowych na pełne), sprzężonych optycznie z przysłonami aperturowymi kondensora, przy czym zmiana fazy i amplitudy światła bezpośredniego względem dyfrakcyjnego w przypadku kontrastu fazowego realizowana jest przez obrót filtru polaryzacyjnego, umieszczonego przed polaryzatorem interferencyjnym oraz drugiego analogicznego filtru umieszczonego w nakładających się wiązkach świetlnych, opuszczających polaryzator interferencyjny. Dodatkowo przy przechodzeniu do badań interferencyjnych zastosowany jest w układzie interferometru układ klinów optycznych pozwalających na zmianę poprzecznego rozdzielenia obrazu badanego przedmiotu.

Przedmiot wynalazku w przykładowym zastosowaniu do obserwacji preparatów przezroczystych przedstawiony jest na rysunku, na którym fig. 1 przedstawia schemat układu optycznego mikroskopu przeznaczonego do obserwacji fazowo-kontrastowej z ciągłą zmianą fazy i amplitudy światła bezpośredniego względem dyfrakcyjnego, fig. 2 — bieg promieni światła bezpośredniego i dyfrakcyjnego w układzie polaryzatora interferencyjnego i pierścieniowych zwierciadeł, fig. 3 — zasadę zmiany fazy światła bezpośredniego względem dyfrakcyjnego, fig. 4 — schemat odmiany mikroskopu przeznaczonego do badań i pomiarów interferencyjnych, fig. 5 — schemat innej odmiany mikroskopu przeznaczonego zarówno do obserwacji fazowo-kontrastowej, jak i do badań interferencyjnych.

Budowa układu optycznego mikroskopu według wynalazku do obserwacji fazowo-kontrastowej z ciągłą zmianą fazy i amplitudy światła bezpośredniego względem dyfrakcyjnego (fig. 1) jest następująca. Pod stolikiem przedmiotowym, na którym znajduje się obserwowany przedmiot **B** znajduje się kondensor **K** wraz z kondensorową przesłoną **D**, w której znajduje się pierścieniowy otwór **R**, o wymiarach tak dobranych, aby jego obraz nie wychodził poza obręb pierścienia **N** zwierciadła **Z₁** oraz pierścienia **M** zwierciadła **Z₂**. Pod kondensorem **K** i przesłoną **D** umieszczony jest polaryzator **P** służący do regulacji natężenia światła bezpośredniego i dyfrakcyjnego.

Badany przedmiot **B** umieszczany jest w płaszczyźnie przedmiotowej obiektywu **Ob**, za którym znajduje się ruchoma soczewka **S₁** służąca do regulacji położenia płaszczyzny obrazowej obiektywu **Ob** przy zmianie jego powiększenia. Za soczewką **S₁** znajduje się polaryzator interferencyjny **PI** składający się z dwóch pryzmatów prostokątnych. Między powierzchniami przeciwprostokątnymi pryzmatów znajduje się światłodzieliąca warstwa **W**, na której padający promień świetlny rozdziela się

na dwa promienie: odbity 1 i przechodzący 2. Na drodze promienia odbitego 1 znajduje się zwierciadło Z_1 z pierścieniem zwierciadlanym N oraz ćwierćfalówka C_1 , przez którą promień 1 przechodzi dwukrotnie, a na drodze promienia przechodzącego 2 znajduje się zwierciadło Z_2 z przezroczystym pierścieniem M oraz ćwierćfalówka C_2 , przez którą promień 2 przechodzi również dwukrotnie.

Wiązka promieni wychodzących z polaryzatora interferencyjnego PI a skierowana do nasadki okularowej $L-Ok$ przechodzi kolejno przez ćwierćfalówkę C_3 , analizator (filtr polaryzacyjny) A i soczewkę dodatkową S_2 .

Układ optyczny odmiany mikroskopu według wynalazku przeznaczonego do badań i pomiarów interferencyjnych (fig. 4) zawiera diafragmę aperturową D_1 ze szczeliną R_1 , odwzorowywaną na powierzchniach odbijających zwierciadeł pełnych Z_3 , Z_4 interferometru, przy czym diafragma ta jest zamocowana obrotowo wokół osi kondensora.

W mikroskopie tym między polaryzatorem interferencyjnym PI , a ćwierćfalówką C_1 umieszczony jest układ dwóch klinów obrotowych (diasporametr) KO służący do otrzymywania dużych rozdwojeń obrazu, natomiast pomiędzy polaryzatorem interferencyjnym PI a ćwierćfalówką C_2 umieszczona jest płytka PK służąca do kompensacji drogi optycznej diasporametr KO .

W drugiej odmianie mikroskopu przeznaczonego zarówno do obserwacji fazowo-kontrastowej, jak i do badań interferencyjnych (fig. 5) pomiędzy zwierciadłem Z_3 i ćwierćfalówką C_1 umieszczona jest przysłona E_1 z przezroczystym pierścieniem N_1 a przed zwierciadłem Z_4 — przysłona E_2 z nieprzezroczystym pierścieniem M_1 . Przysłony E_1 i E_2 zamocowane są w listwie przesuwnej lub tarczy obrotowej umożliwiającej ich wyłączenie poza bieg promieni świetlnych. Kondensor K mikroskopu zawiera układ wymiennych przysłon aperturowych D , D_1 z pierścieniowym otworem R i szczeliną R_1 .

Zasadniczym elementem mikroskopu jest polaryzator interferencyjny PI , wykonany w znany sposób, np. według sposobu podanego przez Beuninga. Składa się on z dwóch identycznych pryzmatów prostokątnych, których powierzchnie przeciwprostokątne pokryte są cienkimi warstwami dielektrycznymi (np. siarczku cynku i fluorku magnezu), w ilości nieparzystej o wysokim i niskim współczynniku załamania i sklejone razem balsamem kanadyjskim, lub innym klejem optycznym. Układ warstw dielektrycznych odgrywa rolę światłodzielną warstwy W , na której padający promień świetlny rozdziela się na dwa promienie: odbity 1 i przechodzący 2, spolaryzowane liniowo w płaszczyznach wzajemnie prostopadłych, przy czym drgania promienia 1 zachodzą w kierunku prostopadłym, a promienia 2 — w kierunku równoległym do płaszczyzny padania światła na warstwę W . Zastosowanie polaryzatora interferencyjnego PI w charakterze światłodzielną kostki do mikroskopu fazowego lub interferencyjnego stanowi jedną z zasadniczych cech wynalazku.

Dla lepszego zrozumienia istoty wynalazku zostanie szczegółowo omówione działanie mikroskopu oraz jego odmian.

Światło wychodzące z pierścieniowego otworu R (fig. 1) przysłony kondensorowej D ulega na badanym przedmiocie B , umieszczonym w płaszczyźnie przedmiotowej obiektywu Ob , częściowemu ugięciu (dyfrakcji). Światło dyfrakcyjne nie skupia się w obrębie pierścienia zwierciadlanego N i pierścienia przezroczystego M , lecz rozprzestrzenia się na całą powierzchnię zwierciadeł Z_1 i Z_2 . W przeważającej mierze zostaje ono z powrotem odbite tylko przez zwierciadło Z_2 , podczas gdy przez zwierciadło Z_1 przechodzi na wskroś i opuszcza układ (znikoma ilość światła dyfrakcyjnego, jaka odbija się od wąskiego pierścienia N jest bez znaczenia).

Światło nie ugięte na przedmiocie B i jak gdyby bezpośrednio przezeń przechodzące, tworzy na pierścieniach N i M ostry obraz otworu R przysłony D . Odbija się więc tylko od zwierciadła Z_1 . W ten sposób w świetle odbitym od zwierciadeł Z_1 i Z_2 i wracającym do kostki PI zachodzi całkowite rozdzielanie światła dyfrakcyjnego od bezpośredniego. Można więc oddziaływać na jeden rodzaj światła (zmieniać jego fazę i amplitudę) bez wywoływania jakichkolwiek zmian w drugim rodzaju światła.

Wiązki świetlne 1 i 2 (fig. 1) rozdzielone przez polaryzator interferencyjny PI są spolaryzowane liniowo w płaszczyznach wzajemnie prostopadłych. Drgania wiązki 2 zachodzą w płaszczyźnie rysunku, a drgania wiązki 1 w kierunku prostopadłym do płaszczyzny rysunku. W takiej sytuacji wiązka 1 po odbiciu od zwierciadła Z_1 nie przejdzie przez kostkę PI , lecz odbije się na warstwie W w kierunku obiektywu Ob . Podobnie wiązka 2 po odbiciu od zwierciadła Z_2 nie odbije się od warstwy W kostki PI , lecz przejdzie przez nią i wpadnie z powrotem do obiektywu. Do okulara obserwacyjnego Ob nie trafi więc ani światło bezpośrednie ani dyfrakcyjne.

Aby mimo to obydwie rodzaje światła wprowadzić do okulara, między kostką PI i zwierciadłami Z_1 i Z_2 umieszczono ćwierćfalówki C_1 i C_2 . Ćwierćfalówki te w świetle dwukrotnie przechodzącym przez nie zachowują się jak półfalówki, a zatem zdolne są do obrotu płaszczyzny drgań światła liniowo spolaryzowanego o kąt symetryczny w stosunku do jednej z głównych ich osi drgań światła. Jeżeli więc ćwierćfalówki C_1 i C_2 ustawi się tak, że np. ich osie szybsze będą tworzyły kąt 45° z kierunkami drgań wiązek 1 i 2 opuszczających polaryzator interferencyjny PI , to kierunek drgań tych wiązek po odbiciu od zwierciadeł Z_1 , Z_2 i powrotnym przejściu przez ćwierćfalówki C_1 , C_2 zostanie obrócony o 90° . W ten sposób wiązka 1 zostanie zmuszona do przejścia przez kostkę PI , a wiązka 2 do odbicia się od warstwy polaryzacyjno-interferencyjnej tej kostki.

Nieodzowny warunek wprowadzenia światła dyfrakcyjnego (odbitego przez zwierciadło Z_2) oraz światła bezpośredniego (odbitego przez pierścień N) do okulara Ok będzie więc w pełni spełniony. Sprawa ta dokładniej przedstawiona jest na fig. 2, gdzie rozrysowano bieg dwóch dowolnych promieni świetlnych: bezpośredniego b i dyfrakcyjnego d . Promień b ulega na warstwie polaryzacyjno-interferencyjnej W podziałowi na dwa promienie: odbity b_1 i przechodzący b_2 . Promień b_1 pada na pierścień zwierciadlany N i odbija się od niego, a na-

stępnie przechodzi po raz drugi przez ćwierćfalówkę C_1 i zmienia się w promień b'_1 , którego kierunek drgań jest odwrócony o 90° w stosunku do kierunku drgań pierwotnego promienia b_1 . Promień b'_1 może więc tylko w całości przejść przez kostkę **PI**.

Druga część promienia bezpośredniego b_2 , padając na przezroczysty pierścień **M** zwierciadła Z_2 przechodzi przezeń i opuszcza układ. Odwrotnie sytuacja przedstawia się z promieniem dyfrakcyjnym d . Jedna jego część d_1 , odbita od warstwy **W**, trafia na przezroczystą część zwierciadła Z_1 i opuszcza układ.

Część druga d_2 , przechodząca przez warstwę **W** pada na odbijający obszar zwierciadła Z_2 i po ponownym przejściu przez ćwierćfalówkę C_2 odbija się następnie od warstwy polaryzacyjno-interferencyjnej, wychodząc z kostki **PI** jako promień d'_2 , którego drgania zachodzą w kierunku prostopadłym do promienia bezpośredniego b_1 . W ten sposób do okulara **Ok** wpadają promienie świetlne bezpośrednie i dyfrakcyjne spolaryzowane liniowo w płaszczyznach wzajemnie prostopadłych. Aby promienie te mogły wzajemnie ze sobą interferować i dawać kontrastowy obraz przedmiotu fazowego **B**, należy kierunek ich drgań sprowadzić do jednej płaszczyzny. Do tego celu służy filtr polaryzacyjny **A** (fig. 1) spełniający rolę analizatora.

Światło dyfrakcyjne po odbiciu się od zwierciadła Z_2 w całości wpada do okulara bez żadnych strat przy odbiciu od warstwy polaryzacyjno-interferencyjnej kostki **PI**. To samo dotyczy światła bezpośredniego odbijającego się od pierścienia metalicznego **N** zwierciadła Z_1 . Jest to jedna z istotnych zalet polaryzatora interferencyjnego użytego w charakterze światłodzielnicy kostki. Inną jej zaletą jest to, że można stosunkowo prosto zmieniać w sposób ciągły fazę światła bezpośredniego względem dyfrakcyjnego będącego w stanie polaryzacji liniowej wzajemnie prostopadłej. Wystarczy w tym celu między analizatorem **A** (fig. 1) a kostką **PI** umieścić trzecią ćwierćfalówkę C_3 . Ćwierćfalówka ta wraz z analizatorem **A** odgrywa rolę kompensatora de Senarmonta. Jeśli mianowicie jedna z jej głównych osi (np. szybsza **X**, fig. 3) tworzy kąt 45° z kierunkami drgań światła bezpośredniego b'_1 i dyfrakcyjnego d'_2 , a kierunek **AA** drgań światła analizatora tworzy z wybraną osią **X** ćwierćfalówki C_3 kąt θ , to między światłem bezpośrednim i dyfrakcyjnym powstaje różnica faz $\psi = 2\theta$. Wychodząc od początkowego kąta $\theta = 0$ i obracając następnie analizatorem w jednym i drugim kierunku o 180° i -180° , przesunięcie fazowe ψ zmienia się od 0 do $+360^\circ$. Dla osiągnięcia pełnej zmiany kontrastu obrazu w mikroskopie fazowo-kontrastowym wystarczająca jest zmiana fazy ψ w granicach 0 do 180° lub -180° . Dla osiągnięcia zmiany fazy ψ w tym zakresie wystarczy, aby analizator **A** obracał się o kąt $\theta = 90^\circ$ i -90° .

Obracając analizator **A** (fig. 1) natężenie światła bezpośredniego i dyfrakcyjnego nie ulega zmianie. Stosunek obu rodzajów światła można regulować obracając ćwierćfalówkę C_1 albo, co jest korzystniejsze, umieszczając pod kondensorem (lub w dowolnym innym miejscu przed kostką **PI**) drugi polaryzator **P**. Jeżeli kierunek drgań światła tego

polaryzatora jest równoległy, do przekroju głównego kostki **PI** (jest to przekrój uwidoczniiony na fig. 1 i 2), to padające na nią światło w całości przechodzi przez warstwę polaryzacyjno-interferencyjną **W**. Jeżeli natomiast polaryzator **P** jest skrzyżowany z przekrojem głównym kostki **PI**, to światło w całości odbija się od warstwy **W**.

W pierwszym przypadku do okulara **Ok** (fig. 1) dotrze tylko światło dyfrakcyjne, a w drugim — tylko światło bezpośrednie. Jeżeli kierunek drgań światła polaryzatora **P** tworzy z przekrojem głównym kostki **PI** kąt γ , to stosunek światła bezpośredniego do dyfrakcyjnego zmienia się jak $\tan^2 \gamma$. Obracając polaryzatorem **P** w granicach $0 - \pm 45^\circ$ uzyskuje się osłabienie natężenia światła bezpośredniego od 0 do 100%.

Dla otrzymania poprawnego obrazu fazowo-kontrastowego obserwowanego przedmiotu **B** (fig. 1) muszą być spełnione następujące warunki:

— Obraz pierścienia **M** (fig. 2), będący zwierciadlanym odbiciem na warstwie polaryzacyjno-interferencyjnej **W**, powinien koncentrycznie pokrywać się z pierścieniem **N**. W tym celu jedno ze zwierciadeł Z_1 , Z_2 powinno być przystosowane do wykonywania ruchu centrującego.

— Zwierciadła Z_1 , Z_2 muszą być tak ustawione, aby obraz obserwowanego przedmiotu, tworzony przez światło odbite od zwierciadła Z_1 , pokrywał się z obrazem tworzonym przez światło odbite od zwierciadła Z_2 . Można to osiągnąć przez pochylenie jednego ze zwierciadeł.

— Drogi optyczne promieni świetlnych odbitych od obydwóch zwierciadeł powinny być identyczne. Można to uzyskać przez obserwację efektów interferencyjnych zachodzących między pierścieniem zwierciadlanym **N** i warstwą odbijającą zwierciadła Z_2 przy lekko zdecentrowanych względem siebie obrazach pierścieni **N** i **M**. Wstawiając na miejsce okulara **Ok** mikroskop pomocniczy i ogniskując go na pierścieniu **N**, zwierciadło Z_2 ustawia się w takiej odległości od kostki **PI**, aż w polu widzenia mikroskopu pomocniczego na obszarze, gdzie warstwy odbijające zwierciadeł Z_1 , Z_2 zachodzą na siebie, powstaną prążki interferencyjne, a właściwie jednorodna barwa zerowego rzędu interferencyjnego (przy zerowym ustawieniu analizatora **A** jest to barwa czarna). Barwa taka powstaje, gdy czoła fal świetlnych odbitych od zwierciadła Z_1 i Z_2 przylegają do siebie.

Ognisko obrazowe obiektywów o różnych powiększeniach znajduje się na różnej wysokości. Aby przy przejściu od jednego obiektywu do drugiego można było odwzorować obraz przysłony pierścieniowej **D** na zwierciadłach Z_1 i Z_2 , należy odpowiednio zmienić położenie soczewki S_1 względem obiektywu, wymienić ją na inną o odpowiednio dobranej ogniskowej lub też przesunąć zwierciadła Z_1 i Z_2 , co jest najmniej korzystne. Wraz z przesunięciem soczewki S_1 (lub jej zmianą) zmieni się również położenie obrazu obserwowanego przedmiotu i dla zachowania stałej długości tubusa mikroskopu należałoby również przesunąć odpowiednio soczewkę S_2 (lub wymienić ją na inną). Zamiast przesuwając lub wymieniać soczewki S_1 i S_2 bardziej efektywnym rozwiązaniem jest zastosowanie układu o zmiennej ogniskowej.

W zasadzie dla obiektywów o różnych powiększeniach powinny być stosowane przysłony aperturowe **D** o różnej średnicy i szerokości pierścienia **R** oraz różne wymiary pierścieni **N** i **M** na zwierciadłach **Z₁** i **Z₂**. Przez odpowiedni dobór soczewki **S₁** (lub układu zmiennoogniskowego) można jednak dla różnych obiektywów zachować jeden wymiar pierścieni **N** i **M**.

Korzystnie jest płytki ćwierćfalowe **C₁** i **C₂** przykleić do zwierciadeł **Z₁** i **Z₂**. Unika się wówczas szkodliwego światła odbitego od tylnych powierzchni tych płytek. Światło odbite od przednich powierzchni ćwierćfalek **C₁** i **C₂** lub od wszelkich innych powierzchni granicznych, znajdujących się między warstwą **W** a płytkami **C₁** i **C₂**, nie jest szkodliwe, gdyż jest ono spolaryzowane w taki sposób, że nie przechodzi do płaszczyzny obrazowej okulara **Ok**.

Zastępując w układzie przedstawionym na fig. 1 przysłonę kondensorową pierścieniową **D**, przysłoną szczelinową **D₁** (fig. 4) oraz zwierciadła **Z₁** i **Z₂** — zwierciadłami pełnymi **Z₃** i **Z₄**, otrzymuje się układ do obserwacji interferencyjnej bez zasadniczej zmiany pozostałych elementów układu poprzedniego. W układzie tym (fig. 4) nie ma rozgraniczenia na światło bezpośrednie i dyfrakcyjne.

W wiązce świetlnej **1** odbitej od zwierciadła **Z₃** i przechodzącej następnie przez kostkę **PI** mieści się zarówno światło bezpośrednie i ugięte na badanym przedmiocie **B**.

Podobnie jest z wiązką **2** odbitą od zwierciadła **Z₄**, a następnie od warstwy **W** kostki **PI**. Wiązki te nakładając się tworzą w polu widzenia obraz interferencyjny w postaci prążków lub jednorodnej barwy. Możliwe przy tym jest otrzymywanie interferencji dwoma sposobami.

W pierwszym sposobie obraz szczeliny **R₁** odwzorowuje się za pomocą soczewki **S₁** na powierzchni zwierciadeł **Z₃** i **Z₄**. Odległość tych zwierciadeł od kostki **PI** jest tak dobrana, aby drogi promieni **1** i **2** były takie same. Jeżeli w tych warunkach czoło powierzchni falowej stowarzyszonej z wiązką świetlną **1** będzie przecinać się z analogicznym czołem powierzchni falowej wiązki **2** pod pewnym małym kątem, to po usunięciu okulara **Ok** zaobserwuje się w pobliżu zwierciadła **Z₃** prostoliniowe prążki interferencyjne z czarnym prążkiem zerowego rzędu i szeregiem barwnych prążków biegnących równolegle do czarnego (w świetle monochromatycznym występują na zmianę prążki czarne i jasne). Pochylając odpowiednio jedno ze zwierciadeł **Z₃** i **Z₄** prążki te można ustawić równolegle do obrazu szczeliny **R₁**. Jeżeli następnie szczelinę **R₁** tak się zawęzi, że będzie „wycinać” z jakiegoś prążka tylko jedną barwę, to w polu widzenia na mniej lub bardziej jednorodnym tle o takiej samej barwie, jaką szczelina wycina z układu barwnych prążków, zaobserwuje się obraz badanego przedmiotu **B**, mniej lub bardziej rozdwojony.

W obszarze, gdzie obrazy na siebie zachodzą barwa interferencyjna będzie taka sama jak barwa tła, natomiast barwa obszaru rozdwojonego będzie się różnić od barwy tła w stopniu tym większym (według skali barw interferencyjnych) im większe przesunięcie fazowe wprowadza badany

przedmiot **B**. W przypadku stosowania światła monochromatycznego rozdwojone obszary obrazu przedmiotu **B** będą się różniły od tła tylko pod względem jasności.

Pomiar różnicy drogi optycznej wprowadzanej przez badany przedmiot odbywa się przy tym w taki sam sposób, jak zmiana przesunięcia fazowego między światłem bezpośrednim i dyfrakcyjnym w przedstawionym poprzednio mikroskopie fazowo-kontrastowym. Obrót analizatora o 180° wprowadza między interferującymi falami świetlnymi różnicę drogi optycznej równą jednej długości fali świetlnej. Nastawiając tło pola widzenia na maksymalnie czarną barwę zerowego rzędu interferencyjnego, a następnie obracając analizator **A** od położenia skrzyżowanego z polaryzatorem **P** (jest to ustawienie zerowe analizatora) do położenia θ_1 i θ_2 , przy których maksymalnie ciemny staje się jeden a następnie drugi rozdwojony obraz badanego przedmiotu, różnicę drogi optycznej δ wprowadzaną przez ten przedmiot oblicza się ze wzoru

$$\delta = \frac{\theta_1^0 - \theta_2^0}{360^\circ} \lambda$$

gdzie λ jest długością fali użytego światła. W powyższy sposób wyznacza się wartości $\delta < \lambda$.

W przypadku $\delta > \lambda$ różnicę drogi optycznej, odpowiadającą całkowitej długości fali świetlnej, odczytuje się w świetle białym na podstawie barw i rzędów interferencyjnych.

Pochylając jedno ze zwierciadeł **Z₃** i **Z₄** można uzyskiwać tylko nieznaczne rozdwojenie obrazu. Dla otrzymywania dużych rozdwojeń obrazu służy diasporametr **KO** składający się z dwóch klinów obrotowych. W celu skompensowania drogi optycznej diasporametr w drugą gałąź interferometru wstawiona jest płytka **PK** wykonana z tego samego szkła co diasporametr **KO**.

Zamiast diasporametr **KO** i płaskorównoległej płytki kompensacyjnej **PK** można umieścić w jednej gałęzi interferometru jeden klin szklany obrotowy, a w drugiej gałęzi drugi identyczny klin, które łącznie spełniają rolę diasporametr i są wzajemnie dla siebie kompensatorami różnicy drogi optycznej.

Przejsie od interferencji jednorodnej do prążkowej realizuje się przez wyprowadzenie obrazu szczeliny **R₁** z płaszczyzny lokalizacji prążków interferencyjnych, powstających w pobliżu zwierciadła **Z₃**. Dokonuje się tego przez przesunięcie soczewki **S₁** w kierunku pionowym.

Przez układ interferencyjny przedstawiony na fig. 4 przebiegają nierównoległe wiązki światła, podobnie jak przez układ przedstawiony na fig. 1.

Na ogół w układach interferencyjnych typu Michelsona stosuje się równoległy bieg promieni między odbijającymi zwierciadłami. W zastosowaniu do mikroskopu może być brany pod uwagę równoległy bieg promieni źrenicowych albo równoległy bieg promieni obrazowych. W pierwszym przypadku układ interferometru obiegają wiązki równoległe promieni świetlnych wychodzących z ogniska obrazowego **F** obiektywu **Ob** (czyli ze szczeliny **R₁**, przysłony **D₁**, której obraz tworzy się w ognisku **F**), a w drugim przypadku — wiązki równoległe

promieni wychodzących z badanego przedmiotu **B**. Równoległy bieg promieni źrenicowych realizuje się przez odpowiednie ustawienie soczewki S_1 (jej ognisko musi się pokrywać z ogniskiem F obiektywu **Ob**), a równoległy bieg promieni obrazowych przez wstawienie na miejsce soczewki dodatniej S_1 soczewki ujemnej, której ognisko pokrywa się z płaszczyzną obrazową obiektywu **Ob**.

Odmiana rozwiązania mikroskopu, przedstawiona na fig. 5, zezwala równocześnie na obserwację fazowo-kontrastową i interferencyjną. W układzie tym przysłona E_1 wraz ze zwierciadłem Z_3 spełniają taką samą rolę jak zwierciadło pierścieniowe Z_1 w układzie przedstawionym na fig. 1, a przysłona E_2 i zwierciadło Z_4 — taką samą rolę jak zwierciadło Z_2 . Włączając przysłony E_1 i E_2 można przeprowadzić obserwację fazowo-kontrastową podobnie jak za pomocą układu przedstawionego na fig. 1, natomiast wyłączając te przysłony układ sprowadza się do układu interferencyjnego przedstawionego na fig. 4.

W przypadku obserwacji fazowo-kontrastowej diasporametr **KO** jest tak ustawiony, ażeby nie występowało żadne rozdwojenie obrazu badanego przedmiotu.

Zmieniając obiektyw **Ob** o jednym powiększeniu na obiektyw o innym powiększeniu należy soczewkę S_1 odpowiednio przesunąć w kierunku pionowym lub wymienić na inną tak, aby ognisko obrazowe obiektywu F zostało odwzorowane w pobliżu powierzchni odbijających zwierciadeł Z_3 i Z_4 (ognisko obrazowe obiektywów o różnych powiększeniach znajduje się bowiem na różnej wysokości).

Stosownie do tego dla zachowania stałej odległości płaszczyzny oporowej obiektywów od preparatu należy przeogniskować soczewkę S_2 lub wymienić ją na inną o odpowiednio dobranej ogniskowej. Zamiast przesuwanych lub wymiennych soczewek S_1 i S_2 mogą być oczywiście zastosowane układy zmiennoogniskowe.

Zastrzeżenia patentowe

1. Mikroskop interferencyjny i fazowy ze zmiennym kontrastem składający się ze źródła światła, kondensora, obiektywu, okulara oraz interferometru typu Michelsona umieszczonego między obiektywem i okulem, **znamienny tym**, że w układzie interferometru Michelsona zastosowany jest światłodzielnik polaryzator interferencyjny (**PI**), między którym a zwierciadłami interferometru (Z_1 ,

Z_2) umieszczone są płytki ćwierćfalowe (C_1 , C_2) skręcające o 90° kierunek drgań promieni świetlnych dwukrotnie przez te płytki przechodzących, dzięki czemu wiązki świetlne (1, 2) rozdzielone przez polaryzator interferencyjny (**PI**) i następnie odbite przez zwierciadła (Z_1 , Z_2) są przez polaryzator z powrotem połączone i po przejściu przez trzecią płytkę ćwierćfalową (C_3) oraz analizator (**A**), interferują ze sobą, przy czym obracając analizatorem (**A**) i dodatkowym filtrem polaryzacyjnym (**P**), umieszczonym przed polaryzatorem interferencyjnym (**PI**), zmienia się fazę i amplitudę między interferującymi wiązkami świetlnymi.

2. Mikroskop według zastrz. 1, **znamienny tym**, że zwierciadło (Z_1) ma warstwę odbijającą w postaci pierścienia (**N**), a zwierciadło (Z_2) ma warstwę odbijającą z przeźroczystym lub pochłaniającym światło pierścieniem (**M**), przy czym obydwa pierścienie (**N**, **M**) są optycznie sprzężone z diafragmą (**D**) umieszczoną w płaszczyźnie ogniskowej kondensora (**K**) i zawierającą pierścieniowy otwór (**R**) o wymiarach tak dobranych, aby jego obraz nie wychodził poza obręb pierścienia (**N**) zwierciadła (Z_1) interferometru, oraz pierścienia (**M**) zwierciadła (Z_2) interferometru.

3. Odmiana mikroskopu według zastrz. 1, **znamienna tym**, że jego kondensor (**K**) zawiera diafragmę aperturową (D_1) ze szczeliną (R_1) odwzorowywaną na powierzchniach odbijających zwierciadeł (Z_3 , Z_4) interferometru, przy czym diafragma ta jest zamocowana obrotowo wokół osi kondensora.

4. Odmiana mikroskopu według zastrz. 1, **znamienna tym**, że jedno zwierciadło (Z_3) układu interferencyjnego zaopatrzone jest w przysłonę (E_1) z przeźroczystym pierścieniem (N_1), a drugie zwierciadło (Z_4) zaopatrzone jest w przysłonę (E_2) z nieprzeźroczystym pierścieniem (M_1), przy czym obydwa pierścienie (N_1 , M_1) są optycznie sprzężone z diafragmą aperturową, umieszczoną w płaszczyźnie ogniskowej kondensora (**K**) i zawierającą pierścieniowy otwór o wymiarach tak dobranych, aby jego obraz nie wychodził poza obręb pierścienia (N_1 , M_1) przysłon (E_1 , E_2) znajdujących się przed zwierciadłami interferometru.

5. Mikroskop według zastrz. 4, **znamienny tym**, że przysłony (E_1 , E_2) są zamontowane w listwie przesuwnej lub tarczy obrotowej umożliwiającej ich wyłączenie poza bieg promieni świetlnych.

6. Mikroskop według zastrz. 4, **znamienny tym**, że jego kondensor (**K**) zawiera układ wymiennych przysłon aperturowych (D , D_1), z pierścieniowym otworem (**R**) i szczeliną (R_1).

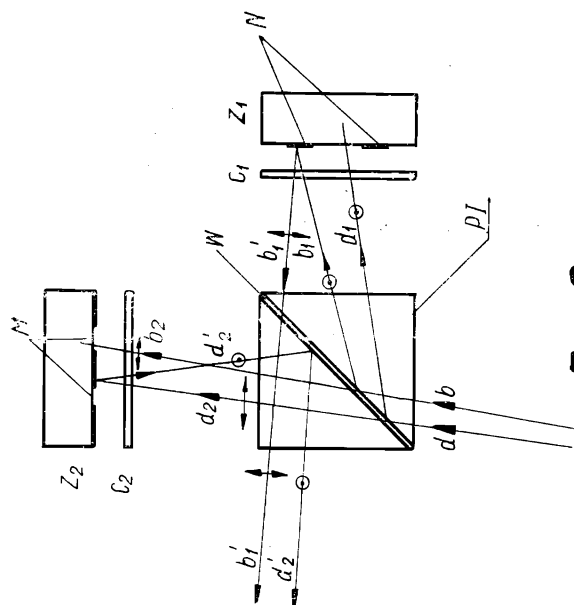


Fig. 2

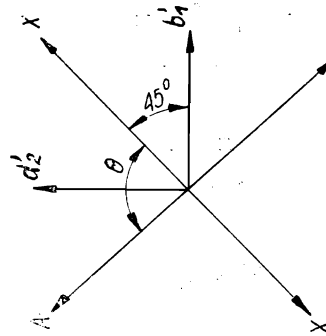


Fig. 3

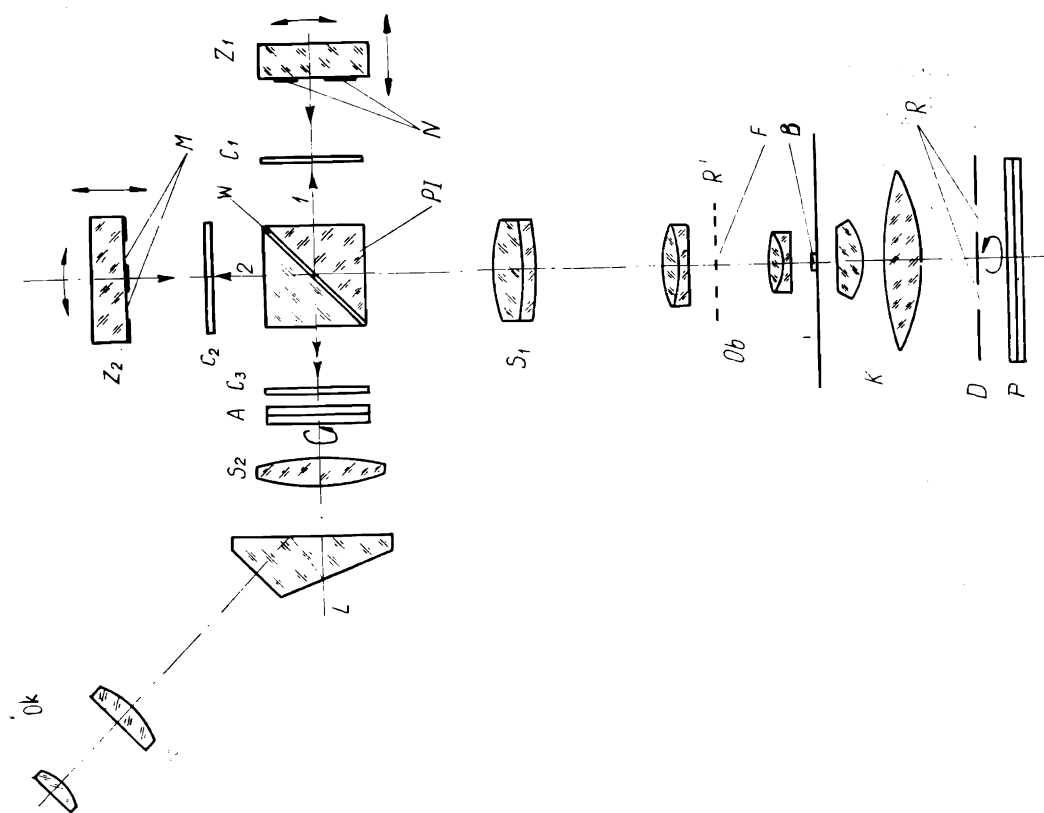


Fig. 1

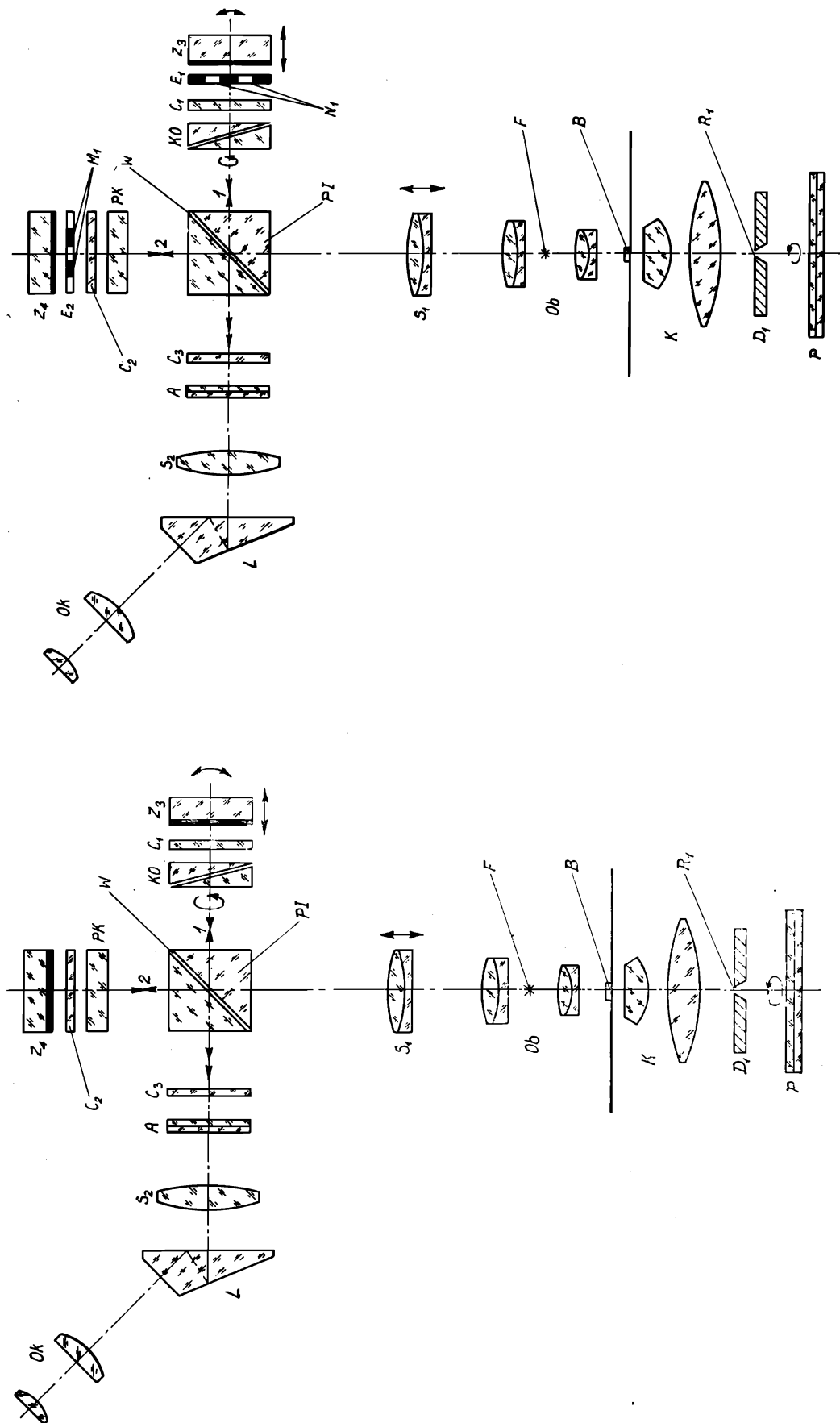


Fig. 5

Fig. 4